Aus dem Institut für Tierpathologie der Universität München.
Vorstand: Professor Dr. O. Seifried.

Untersuchungen zur Frage der Übertragbarkeit der Bornaschen Krankheit durch Stechfliegen und Pferdebremsen.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde
eines Doktor medizinae veterinariae
der tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

German Karl Zierer
bestallter Tierarzt aus Landshut.

1939

Druck von Michael Laßleben, Kallmünz über Regensburg.

Gedruckt mit Genehmigung der tierärztlichen Fakultät
der Universität München.

Referent: Professor Dr. O. Seifried.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Einleitung:

Nach einer zusammenfassenden Darstellung im Handbuch für Viruskrankheiten (35) erfolgt die Übertragung bei den meisten von diesen wie bei den bakteriellen Krankheiten durch Tröpfchen- und Staubinfektion oder durch Kontaktinfektion. Eine Ausnahme bilden Gelbfieber, Pappatacifieber, Dengue und Fünftagefieber, deren Übertragung durch den Stich oder Biß blutsaugender Insekten erfolgt.

In neuer Zeit gesellte sich zu diesen Krankheiten, dank der grundlegenden Forschungen auf diesem Gebiet in Amerika (3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13), die Encephalomyelitis der Pferde.

Es gelang Kelser die Übertragung mit Aedes ägypti, täniorrhynchus und vexans, Ten Broeck, Merril und Lacaillade mit Aedes sollicitans von kranken Meerschweinchen auf gesunde, in einem Fall sogar auf ein Pferd. Diese Ergebnisse sind umso bemerkenswerter, als es sich dabei um die erstmalige Feststellung handelt, daß ein Virus mit elektiv neurotropen Eigenschaften durch Stechmücken übertragen wird. Es wurde weiterhin festgestellt, daß die Übertragung nicht rein mechanisch stattfindet, sondern daß das Virus in den Mosquitos einen Vermehrungs- oder Reifungsprozeß durchmacht, denn die Übertragung gelang immer erst einige Tage nach Aufnahme des infektiösen Materials durch die Mosquitos. Durch die Versuche von Whitman (12) mit dem Gelbfiebervirus, sowie von Merril und TenBroeck (9) mit dem Virus der Encephalomyelitis der Pferde wurde die Theorie der Vermehrung des Virus in den Mosquitos einwandfrei bewiesen. Es ist demnach leicht möglich, daß Insekten, die eine durch den Impfversuch nicht mehr nachweisbare Virusmenge aus dem Blutstrom aufgenommen haben, diese in sich vermehren und dann durch den Stich ein Tier anstecken können.

Diese Forschungsergebnisse sind auch für Deutschland von großem Wert, da eine Encephalitis der Pferde, allgemein bekannt unter dem Namen „Bornasche Krankheit", alljährlich große Opfer fordert. Über die Art der Verbreitung dieser Seuche und das Zustandekommen der natürlichen Ansteckung besteht noch große Unklarheit. Zwei Fragen stehen im Vordergrund: Ist die Krankheit kontagiös oder handelt es sich um eine Bodenseuche? Für beide Theorien ließen sich keine bis ins Letzte gehenden Beweise erbringen. Es gelang zwar der experimentelle Nachweis der Ausscheidung des Virus mit dem Nasenschleim, mit dem Speichel, dem Harn und der Milch kranker Pferde (Zwick und Mitarbeiter), jedoch blieben Kohabitationsversuche mit Kaninchen in den meisten Fällen ergebnislos. Auch der Nachweis, daß es sich um eine Bodenseuche handelt,

konnte experimentell nicht erbracht werden, sodaß auch dieser Theorie praktisch keine Bedeutung beigemessen werden kann.

Jedoch das Auftreten der Bornaschen Krankheit als „Saisonkrankheit", ihre Häufung während der Sommermonate, legt den Gedanken nahe, daß an der Übertragung Insekten beteiligt sein können, zumal es sich bei der Bornaschen Krankheit um eine der amerikanischen Pferdeencephalomyelitis wenigstens entfernt verwandte Seuche handelt. Die bisherigen Forschungsergebnisse lassen zwar die Ansicht einer Insektenübertragung nicht als sehr wahrscheinlich erscheinen. Der Nachweis des Virus im Blute kranker Tiere ist nämlich fast nie gelungen im Gegensatz zu der amerikanischen Pferdeencephalomyelitis, bei der dieser Nachweis regelmäßig gelingt und auch eine künstliche Ansteckung der Bornaschen Krankheit auf kutanem Wege konnte sehr selten erfolgreich durchgeführt werden. Trotzdem ist es doch zweckmäßig, die für eine Insektenübertragung wichtigen Fragen in ihren Einzelheiten nachzuprüfen.

Eigene Untersuchungen:

Diese gliederten sich nach der Wichtigkeit der zu klärenden Fragen in 3 Vorversuchsreihen und 5 Hauptversuche.

I) Nachweis des Virus im Blut infizierter Kaninchen.

II) Nachweis des Virus in der Haut von intracerebral geimpften Kaninchen.

III) Nachweis der Infektionsmöglichkeit von der Haut aus durch intracutane Impfung.

IV) Übertragungsversuche durch Insekten (Stomoxys calcitrans, sowie Tabanus equi und bovinus):

1, 2 und 3) Mit Virusemulsion gefütterte Insekten werden gesunden Kaninchen zugeführt.

4 und 5) Auf einem kranken Kaninchen gefütterten Insekten wird die Möglichkeit gegeben, gesunde Kaninchen zu stechen.

I. Versuche zum Nachweis des Virus im Blut:

Nachdem im Schrifttum keine einheitlichen Angaben darüber zu finden sind, ob das Virus der Bornaschen Krankheit in das Blut übergeht oder nicht, bezw. in welchem Stadium der Krankheit es sich im Blute befindet, so erscheint es zweckmäßig darüber zunächst Versuche anzustellen.

1. Es wurden 3 Kaninchen (K 1, K 2 und K 3) mit Trockenemulsion Gießen A 5884/ Stamm V, die mit steriler phys. Kochsalzlösung in einem Glasmörser steril verrieben worden war, zu 0,2 ccm intracerebral geimpft. Von diesen Kaninchen wurde je einem in 3-tägigen Abständen aus einer Ohrvene Blut zu 0,2—0,5 ccm entnommen und einem anderen Versuchstier intracerebral eingeimpft. Es wurde 12 mal Blut entnommen vom 4. Tage nach der Infektion bis zum 35. Tage. Am 24. Tage nach der Infektion zeigte K 3 die typischen Symptome der Bornaschen Krankheit. K 1 und K 2 haben diese Symptome nicht so deutlich entwickelt, jedoch war auch bei ihnen schlafsüchtiges Benehmen nicht zu verkennen. Zu den Blutentnahmen wurde am meisten K 3 verwendet, da es bei der Blutentnahme die geringsten Schwierigkeiten bereitete im Gegensatz zu den beiden anderen, die sehr anämisch waren und nach den ersten Blutentnahmen kaum mehr Blut spendeten. Am 35. Tage nach der Infektion wurden diese 3 Tiere getötet durch Entbluten, nachdem ihr Befinden schon sehr schlecht war und sie kaum mehr Futter aufgenommen hatten. Nach der Betäubung wurden jedem dieser Tiere 0,5 ccm Blut entnommen und je einem Tier intracerebral eingeimpft (K 17, K 18 und K 19).

Ergebnis:

Die Tiere, welche während der Latenz- und Krankheitsperiode mit Blut intracerebral geimpft worden waren, entwickelten keinerlei Krankheitssymptome, obwohl einer größeren Anzahl, um eventuelle latente Krankheit zum Ausbruch zu veranlassen, sterile phys. Kochsalzlösung in einer Menge von je 0,5 ccm subdural injiziert worden war. (Am 5. 5. 1938: K 6, K 8, K 12, K 15 und K 16.) Sie wurden nach längerer Beobachtungszeit als negativ aus dem Versuch ausgeschieden. Das Gleiche war der Fall bei den mit Blut von K 1 und K 2 nach deren Tötung geimpften Tieren. Jedoch entwickelte K 17, das mit 0,5 ccm Blut von K 3 nach dessen Tötung intracerebral geimpft worden war, unzweifelhaft die Symptome der Bornaschen Krankheit. Die histologische Untersuchung bestätigte in jedem Falle den klinischen Befund.

2. Von den Kaninchen K 1, K 2, K 3 und K 17 wurde nach der Tötung eine Gehirnhälfte zu histologischen Untersuchungen, die andere zur Weiterimpfung verwendet.

Zuerst möge der Versuchsgang der Tiere K 20, K 21 und K 22 beschrieben werden, die mit Gehirnemulsion von K 1, K 2 und K 3 geimpft worden waren. Verfahren wurde bei der intracerebralen Impfung, sowie bei der Herstellung der Emulsion wie im ersten Versuchsgang. Die Impfung erfolgte am 26. 4. 1938. Es wurden nun wieder in 3tägigen Abständen Blutproben aus der Ohrvene jeweils eines Kaninchens entnommen und einem anderen Tier intracerebral eingeimpft. Es wurden so bis zum 19. 5. 1938 7 Blutentnahmen durchgeführt. Die beiden letzten Blutentnahmen der Tiere K 20 und K 21 erfolgten nach Eintreten deutlicher Krankheitssymptome, während K 22 spontan an Bornascher Krankheit am 23. Tage p. i. verendete, ohne zur Blutentnahme verwendet werden zu können.

Von K 17 wurde auf 2 Wegen weitergeimpft:

Einmal wurden nach der Betäubung 0,3 ccm Blut entnommen und K 30 intracerebral eingeimpft. Dieses Tier entwickelte deutliche Symptome der Bornaschen Krankheit und wurde am 21. 6. durch Entbluten getötet. Eine Weiterverimpfung von Blut von diesem Tier hatte keinen Erfolg, da das intracerebral geimpfte K 36 nach 3 Tagen an den Folgen der Impfung intercurrent verendete.

Weiterhin wurde mit Gehirnemulsion von K 17, K 34 intracerebral geimpft. Dieser Versuch diente als Kontrolle. Außerdem wurden zur Weiterführung der Versuche und zur Kontrolle 3 Kaninchen mit Gehirnemulsion von K 30 geimpft, welche die Nummern K 42, K 43 und K 44 erhielten.

Ergebnis:

Von den mit Blut von K 20, K 21 und K 22 geimpften Tieren entwickelte keines die Bornasche Krankheit. Jedoch erkrankte das Versuchstier K 30, das mit Blut von K 17 nach dessen Betäubung geimpft worden war, an der Bornaschen Krankheit und sowohl der Impfversuch als auch die histologische Untersuchung bestätigten das Ergebnis.

Die einzelnen Impfdaten sind aus der Tabelle und den Stammbäumen am Schluß der Arbeit zu ersehen!

Folgerung:

Die Ergebnisse der Blutübertragungsversuche in Reihe 1 und 2 ergeben zusammengefaßt folgendes Bild:

Während des Incubationsstadiums ist kaum mit einem Übertritt des Virus in das Blut zu rechnen. Auch während des Krankheitsstadiums ist dieser nicht gegeben. Bei fortgeschrittener Erkrankung kann jedoch unter gewissen Voraussetzungen, deren Gesetzmäßigkeit nicht zu erkennen ist, ein Übertritt des Virus in das Blut erfolgen, wie die beiden positiven Versuchstiere K 17 und K 30 zeigen.

II. Nachweis des Virus in der Haut von intracerebral geimpften Kaninchen:

Nachdem die erste Versuchsreihe einwandfrei ergeben hat, daß ein Übertritt des Bornavirus in das Blut nur ausnahmsweise vorkommt, es aber für den weiteren Verlauf der Versuche wichtig ist zu wissen, ob nicht eventuell das Virus von den Insekten von einer Hautnervenendigung aus aufgenommen werden kann, — da sich das Virus nach den Untersuchungen von Zwick und Seifried, von Pette und Környey, sowie von Nicolau und Galloway auf dem Wege der Nervenbahnen sowohl zentrifugal als auch zentripetal ausbreitet — so haben wir auch zur Klärung dieses Punktes einschlägige Versuche unternommen. Zu diesen Versuchen wurden 2 Kaninchen verwendet.

Bei Kaninchen 20 wurde nach Eintritt der Krankheitssymptome eine etwa 10 cm^2 große Stelle rasiert (Depilatorium wurde nicht verwendet um eine Desinfektion und etwaige Abtötung des Virus zu vermeiden). Sofort nach Tötung des Tieres wurde dieses Hautstück entfernt und zur Keimfreimachung in 50%iges Glycerin gelegt. Nach mehreren Tagen wurde dieses Hautstück in steriler phys. Kochsalzlösung gewaschen, nach Zerkleinerung mit steriler Schere in einem Glasmörser mit sterilem Glaspulver und etwas phys. Kochsalzlösung eine halbe Stunde lang verrieben, hierauf eine Viertelstunde bei niedriger Umdrehungszahl zentrifugiert. Von der überstehenden klaren Flüssigkeit wurde nun K 35 eine Menge von 0,5 ccm

intracerebral einverleibt. Mit der Haut von K 30 wurde ebenso verfahren und die gewonnene Hautemulsion wurde K 39 intracerebral injiziert.

Ergebnis:

Keines dieser beiden Tiere entwickelte die Bornasche Krankheit; die histologische Untersuchung bestätigte den negativen Ausgang.

Folgerung:

Nach dem Ausfall dieses Versuches ist nicht damit zu rechnen, daß das Bornavirus in den Hautnervenendigungen in einer Menge vorhanden ist, die genügt ein Insekt beim Blutsaugen mit einer Virusmenge zu versorgen, die für die Übertragung auf ein anderes Tier genügen würde.

III. Nachweis der Infektionsmöglichkeit von der Haut aus:

Da die Frage der Möglichkeit der intracutanen Ansteckung für die Durchführung der Übertragung der Bornaschen Krankheit durch Insekten sehr wichtig ist, so führten wir auch dahingehende Versuche mit 4 Kaninchen auf 2 Wegen durch.

1. Es wurden 2 Kaninchen (K 4 und K 5) in der Rückengegend in Handtellergröße depiliert und gründlich vom Depilatorium gereinigt. Eine ganz feine Injektionsnadel wurde wiederholt in Virusemulsion eingetaucht und es wurden bei jedem Tier ca. 50 Stiche mit der mit Emulsion behafteten Nadel in die enthaarte Haut ausgeführt. Diese beiden Tiere entwickelten trotz 10 Wochen langer Beobachtungszeit und nachträglicher subduraler Impfung mit 0,5 ccm phys. Kochsalzlösung (K 5 am 5. 5. 1938) keinerlei Symptome der Bornaschen Krankheit.

2. Zu dem 2. Versuch wurden bei 2 Kaninchen für die Impfung besonders nervenreiche Hautpartien, wie Ohren und Nasengegend, verwendet. Die Enthaarung unterblieb, da diese Körperstellen nur dünn behaart sind. Es wurden kleinste Emulsionsenmengen unter leichtem Druck mit Hilfe einer Spritze in die Haut an etwa 50 Stichstellen bei jedem Kaninchen eingespritzt.

Ergebnis:

Sowohl der erste wie auch der zweite Versuch verlief klinisch und histologisch negativ.

Folgerung:

Bei intracutaner Einverleibung scheint das Bornavirus in der normalen Virulenz bei ungefähr 10facher Gehirnverdünnung nicht in der Lage zu sein, die Krankheit zu erzeugen. Wenn man auch bei dieser Art der Einverleibung mit einer längeren Incubationszeit

rechnen muß, da das Virus bei peripherer Ansteckung einen längeren Weg in das Gehirn zurückzulegen hat, so wäre bei diesen Versuchen diese Möglichkeit wohl vorhanden gewesen, da die Impftiere lange beobachtet wurden und immer erst spät aus den Versuchen als negativ ausgeschieden wurden. Auch die histologische Untersuchung ergab keinen vom Normalen abweichenden Befund. Wenn eine Infektion durch Insekten durch intracutane Einverleibung möglich sein soll, so müßte wohl das Virus in den Insekten eine gewaltige Virulenzsteigerung erfahren. Eine solche wurde jedoch für unsere einheimischen Insektenarten, die zu den Versuchen verwendet werden sollen, noch nicht nachgewiesen. Für die Aedesarten wurde eine solche in den Versuchen von Ten Broeck (Encephalomyelitisvirus) und Whitman (Gelbfiebervirus) in Amerika allerdings festgestellt.

Faßt man die Ergebnisse dieser 3 Versuchsreihen zusammen, so erscheint ein Gelingen der Übertragung der Bornaschen Krankheit, wie bei den Versuchen der amerikanischen Forscher, sehr in Frage gestellt. Gleichwohl wurde die IV. Versuchsreihe durchgeführt, da noch irgendwelche unbekannte Faktoren eine Übertragung durch Insekten doch noch gelingen lassen könnten.

IV. Übertragung durch Insekten:

Nachdem das Bornavirus nach den Ergebnissen der Forschungen von Zwick, Seifried und Witte durch den Speichel, Nasenschleim und den Harn ausgeschieden wird, so könnte man wohl noch damit rechnen, daß die Insekten hier den Krankheitsstoff aufnehmen und ihn auf ein anderes gesundes Tier verschleppen. Wenn auch die Kohabitationsversuche fast durchwegs negativ ausgefallen sind, so wäre auch in diesem Fall eine Vermehrung des Virus bezw. eine Virulenzsteigerung in den Insekten anzunehmen.

Die Durchführung der Übertragungsversuche mit Stomoxys calcitrans und Tabanus equi bzw. bovinus stößt auf Schwierigkeiten, da zur Haltung dieser Insekten die Nachahmung der natürlichen Verhältnisse unbedingt erforderlich ist. Dies ist unter Laboratoriumsbedingungen in einem Käfig sehr schwierig, wenn nicht unmöglich. Die blutsaugenden Arten können das Virus nur dann aufnehmen, wenn es im Blute kreist; die Versuche der I. Reihe haben ergeben, daß dies nur in ganz seltenen Fällen eintritt. Haben sich nun die Insekten tatsächlich mit Blut vollgesogen, so dauert es längere Zeit, bei Bremsen z. B. 3—12 Tage bis neue Nahrung aufgenommen wird. In keinem der Versuche gelang es nun, die Bremsen so lange in Gefangenschaft am Leben zu erhalten. Außerdem muß eine gewisse Temperatur herrschen, um die Stechlust auszulösen, bei Bremsen etwa 20 Grad.

Stomoxys calcitrans ist nicht so empfindlich, eine Woche etwa waren die Fliegen im Versuch zu verwenden; auch die Stechlust im Käfig ist befriedigend.

Zur Nachahmung natürlicher Verhältnisse wurde ein Doppelkäfig gebaut, welcher durch die am Schluß der Arbeit beigegebene Zeichnung veranschaulicht wird. Mit einem Aufwand von 9 gesunden und 2 kranken Kaninchen wurden die Versuche durchgeführt, die im Nachfolgenden beschrieben werden.

1. Zum ersten Versuch wird am 20. 7. 1938 in den linken Käfig ein gesundes Kaninchen K 45 gesetzt, das schon längere Zeit vorher — um eine Desinfektion der Haut zu vermeiden — in der Rückengegend in Handtellergröße depiliert worden war, in die rechte Käfighälfte eine Petrischale, deren Boden mit einem Gemisch von virushaltiger Gehirnsubstanz und 50%iger Traubenzuckerlösung bedeckt war, welche die virushaltige Körperausscheidung bzw. das virushaltige Blut vertreten sollte. In diesen Käfig wurden bei geschlossenem Schieber gegen 60 Stomoxys und einige Pferdebremsen gebracht. Hier wurden die Insekten einen Tag belassen. Die Beobachtung ergab, daß die bereitete Lösung von den Fliegen gerne aufgenommen wurde mit der Einschränkung, daß die Pferdebremsen nicht an dieses Gemisch herangingen und schon nach wenigen Stunden Gefangenschaft verendet waren. Nach Ablauf eines Tages, am 21. 7. 1938, wurde der trennende Schieber entfernt und die Insekten wurden zum größten Teil in den linken Käfig zu dem gesunden Kaninchen gebracht. Es war zu beobachten, daß die Fliegen das Kaninchen sehr beunruhigten. In einer halben Stunde konnten etwa 20 Fliegen beim Blutsaugen gezählt werden. Das Kaninchen zeigte nach kurzer Zeit an der depilierten Haut gerötete Stellen, die auf die Insektenstiche und dadurch bedingtes Scheuern zurückzuführen sind. Es wurde weiterhin beobachtet, daß die Insekten nicht nur die depilierte Haut aufsuchten, sondern auch andere Körperstellen, wie die Nasengegend und das Auge. Der Schieber der Trennungswand blieb bis zum Ablauf des Versuches geöffnet, damit die Fliegen die Emulsion wiederholt aufnehmen konnten. Es wurde festgestellt, daß einzelne Stomoxys sofort nach Aufnahme der Emulsion in den linken Käfig flogen und das Kaninchen aufsuchten. Es wurde während dieses Versuches wiederholt dafür gesorgt, daß die Fliegen die Käfige wechselten um eine größere Sicherheit der Ansteckung zu gewährleisten. Dieser Wechsel wurde mit Zugluft bewerkstelligt. Bis zum 26. 7. 1938, also 6 Tage, blieb diese Versuchsanordnung unverändert, dann waren nur noch 5 Stomoxys am Leben. Der Versuch wurde deshalb abgebrochen und wiederholt.

2. Die Versuchsanordnung bei der Wiederholung, die vom 26. 7. 1938 bis 1. 8. 1938 insgesamt dauerte, war im großen und ganzen

dieselbe wie vorher; es wurden 90 Stomoxys in den rechten Käfig gebracht, der mit einer frisch zubereiteten Emulsion beschickt worden war; in den linken Käfig wurden 2 gesunde Kaninchen gesetzt, die wie im ersten Versuch enthaart worden waren. Die Beobachtungen bei diesem Versuch waren dieselben wie beim ersten und bedürfen deshalb keiner weiteren Erörterung.

3. Eine weitere Wiederholung dieses Versuches erfolgte vom 7. 2. 1939 bis 15. 2. 1939 unter den gleichen Voraussetzungen wie beim vorhergehenden Versuch.

4. Bei der 4. Versuchsanordnung wurde in den rechten Käfig am 1. 8. 1938 ein krankes Kaninchen gebracht (K 42), das die Krankheit im Höhepunkt zeigte. Dazu kamen noch 15 Pferdebremsen und 5 Rinderbremsen, außerdem noch gegen 70 Stomoxys, sodaß sich bei dem kranken Kaninchen gegen 90 Insekten befanden. Das kranke Kaninchen war, wie die Tiere der vorhergehenden Versuche, in der Rückengegend rasiert, außerdem wurde es mit einer Salzlösung besprengt um die Insekten zum Stechen anzureizen. In den linken Käfig wurden 2 vorbereitete gesunde Kaninchen gebracht. Der Schieber blieb vorerst noch geschlossen. Schon nach wenigen Stunden waren nur noch 1 Pferdebremse und 4 Rinderbremsen am Leben. Zwei Rinderbremsen saugten von dem kranken Kaninchen Blut. Sie wurden nach 6 Stunden gefangen und zu den gesunden Kaninchen gebracht. Jedoch war nur eine einzige beim Saugen auf einem gesunden Kaninchen zu beobachten. Es ist jedoch zweifelhaft, ob diese Rinderbremse so lange am Kaninchen war, um genügend stechen und saugen zu können, da sie vom Kaninchen nach kurzer Zeit abgeschüttelt wurde und nicht mehr aktiv genug war, ein zweitesmal zu saugen. Die Bremsen zeigen in der Gefangenschaft überaus geringe Stechlust und ganz kurze Lebensdauer; es gelingt sie höchstens 24 Stunden am Leben zu erhalten. Es wurden noch wiederholt Bremsen in den Versuch eingeschaltet, jedoch immer ohne Erfolg; es gelang in keinem weiteren Falle, sie im Käfig zum Stechen zu veranlassen. Deshalb wurde auch bei diesem Versuch das Hauptaugenmerk auf Stomoxys gerichtet. Diese zeigten sich im Gegensatz zu den Bremsen sehr aktiv; sie beunruhigten das kranke Kaninchen sehr stark. Innerhalb einer halben Stunde wurden auf dem kranken Kaninchen 27 Fliegen gezählt. Nach 24 Stunden, also am 2. 8. 1938 wurde der Schieber geöffnet und ein Teil der Stomoxys in den linken Käfig mit den beiden gesunden Kaninchen getrieben. Hier zeigten sie sich ebenfalls sehr stechlustig, es wurden in einer Viertelstunde gegen Abend 12 Fliegen an beiden gesunden Kaninchen gezählt. Der Schieber blieb für die Dauer des Versuches geöffnet. Es wurde wiederholt ein Wechsel der Fliegen durch Zugluft herbeigeführt, um die Wahrscheinlichkeit, daß mehrere Fliegen

an dem kranken, wie auch an dem gesunden Kaninchen saugten, zu erhöhen. Dieser Versuch wurde mit dem Absterben der letzten Stomoxys am 9. 8. 1938 abgebrochen.

5. Auch dieser Versuch wurde mit der gleichen Anordnung vom 5. 4. 1939 bis 12. 4. 1939 wiederholt.

Ergebnis:

Keines der 9 gesunden Tiere erkrankte an Bornascher Krankheit; auch die histologische Untersuchung bestätigte den negativen klinischen Befund.

Zusammenfassung und Schluß:

1. Das gehäufte Auftreten der Bornaschen Krankheit während der Sommermonate, sowie verschiedene gemeinsame Merkmale, die diese Krankheit mit der amerikanischen Pferdeencephalomyelitis aufweist, lassen es möglich erscheinen, daß die Übertragung der Bornaschen Krankheit, ähnlich wie bei der amerikanischen Pferdeencephalitis, durch Insekten geschieht.

2. Zur Lösung dieser Frage wurden die folgenden Versuche angestellt:

a) Nachweis des Bornavirus im Blut bzw. Ermittelung des Zeitpunktes des Auftretens des Bornavirus im Blute erkrankter Tiere,

b) Nachweis des Virus in der äußeren Haut erkrankter Tiere,

c) Frage der Ansteckung (von Kaninchen) vermittels intracutaner Verimpfung von Bornavirus.

3. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigten, daß

a) aus 23 mit dem Blut von erkrankten bezw. infizierten Tieren intracerebral geimpften Kaninchen das Virus nur 2 mal im Blute nachgewiesen werden konnte und zwar in dem einen Falle 35 Tage, in dem anderen Falle 39 Tage nach der Infektion,

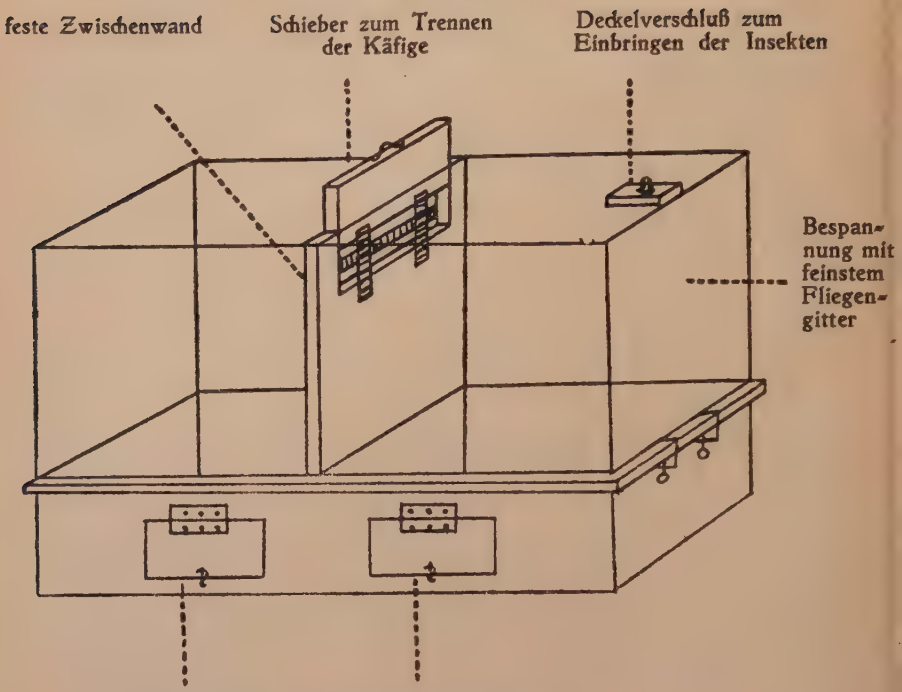
b) das Bornavirus auch bei längerer Dauer der Erkrankung nicht in der Haut nachgewiesen werden kann und

c) durch intracutane Impfung mit Bornavirus eine Ansteckung nicht möglich ist.

4. Trotz dieser für die Möglichkeit einer Übertragung der Bornaschen Krankheit durch Insekten wenig günstigen Voraussetzungen wurden 5 Übertragungsversuche mit Stomoxys calcitrans und Tabanus equi bezw. bovinus unter bestimmten Laboratoriumsbedingungen angestellt. Sie verliefen sämtliche trotz längerer Versuchsdauer negativ.

5. Die Ergebnisse der im Vorhergehenden beschriebenen Versuche machen es wenig wahrscheinlich, daß unter natürlichen Verhältnissen eine Übertragung der Bornaschen Krankheit durch Insekten in Betracht kommt. Eine solche Übertragung kann aber auch auf Grund dieser Versuchsergebnisse nicht verneint werden, da unter Umständen Insekten das Virus von einer anderen Infektionsquelle aufnehmen können als von einem kranken Tier.

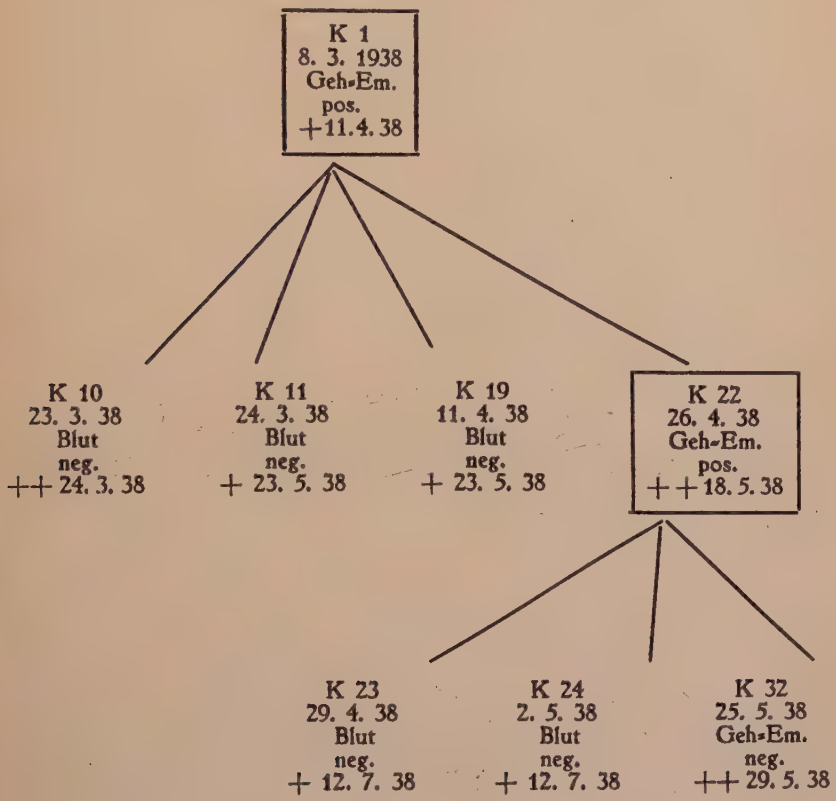
Versuchstierkäfig



Klappverschluß zum Füttern der Kaninchen

Beschreibung: Der 1 m lange, 60 cm breite und 60 cm hohe Käfig besteht aus einem massiven Holzkasten, der 20 cm hoch und in der Mitte abgeteilt ist. An jeder Hälfte ist ein 10 zu 20 cm großer Klappverschluß angebracht, der die Fütterung der Tiere ermöglicht. Auf diesen Unterteil wird ein 40 cm hohes, im Übrigen die gleichen Maße aufweisendes Lattengestell aufgesetzt, das mit feinstem Fliegengitter bespannt ist. Dieses ist ebenfalls durch eine Zwischenwand abgeteilt, die genau auf die untere paßt. Der ganze Käfig ist so in 2 vollkommen voneinander getrennte Käfige abgeteilt. Im oberen Drittel enthält die Zwischenwand einen 10 zu 40 cm großen Schieber, der einen freien Durchgang von einem Käfig zum anderen ermöglicht, ohne daß eine Berührung der sich in beiden Käfigen befindenden Kaninchen zustandekommen kann. Deshalb ist über der Schieberöffnung noch ein aus mehreren 2 cm breiten Holzlatten bestehendes weites Gitter angebracht. An der Oberseite des rechten Käfigs befindet sich ein 5 zu 5 cm großer Deckelverschluß zum Einbringen der Insekten.

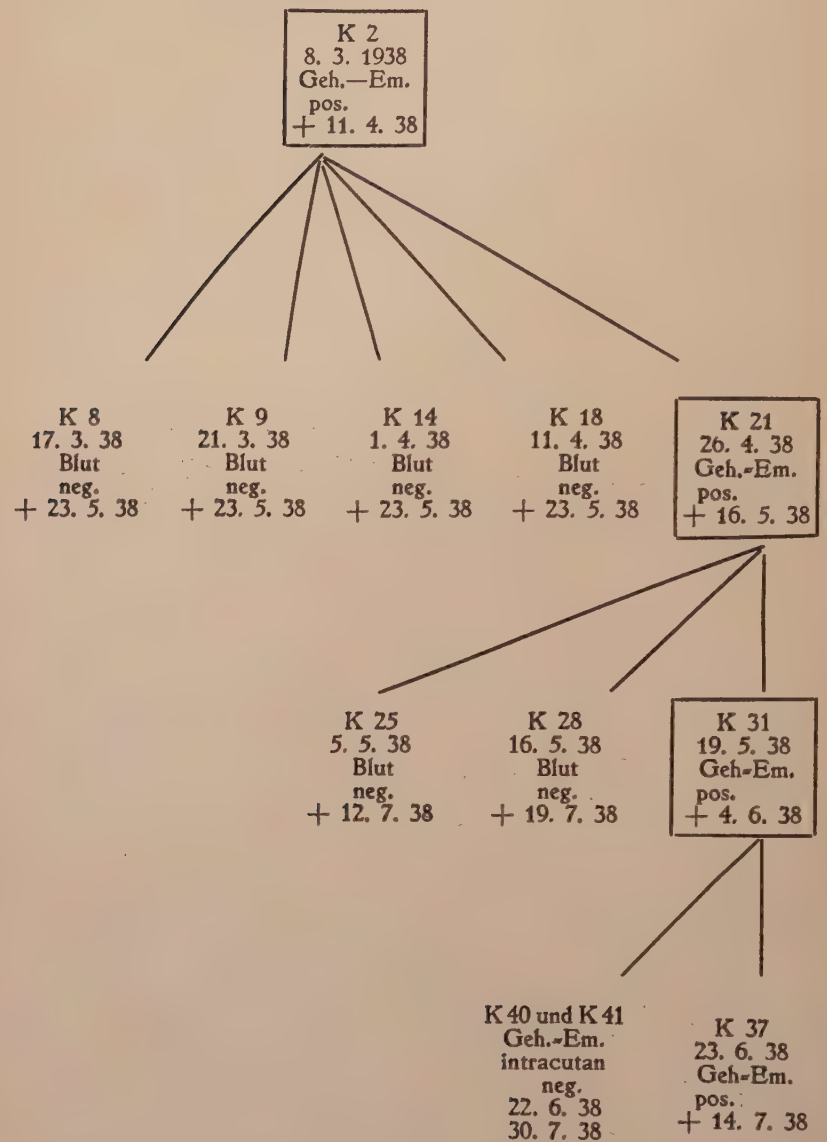
Stammbaum von Kaninchen 1.



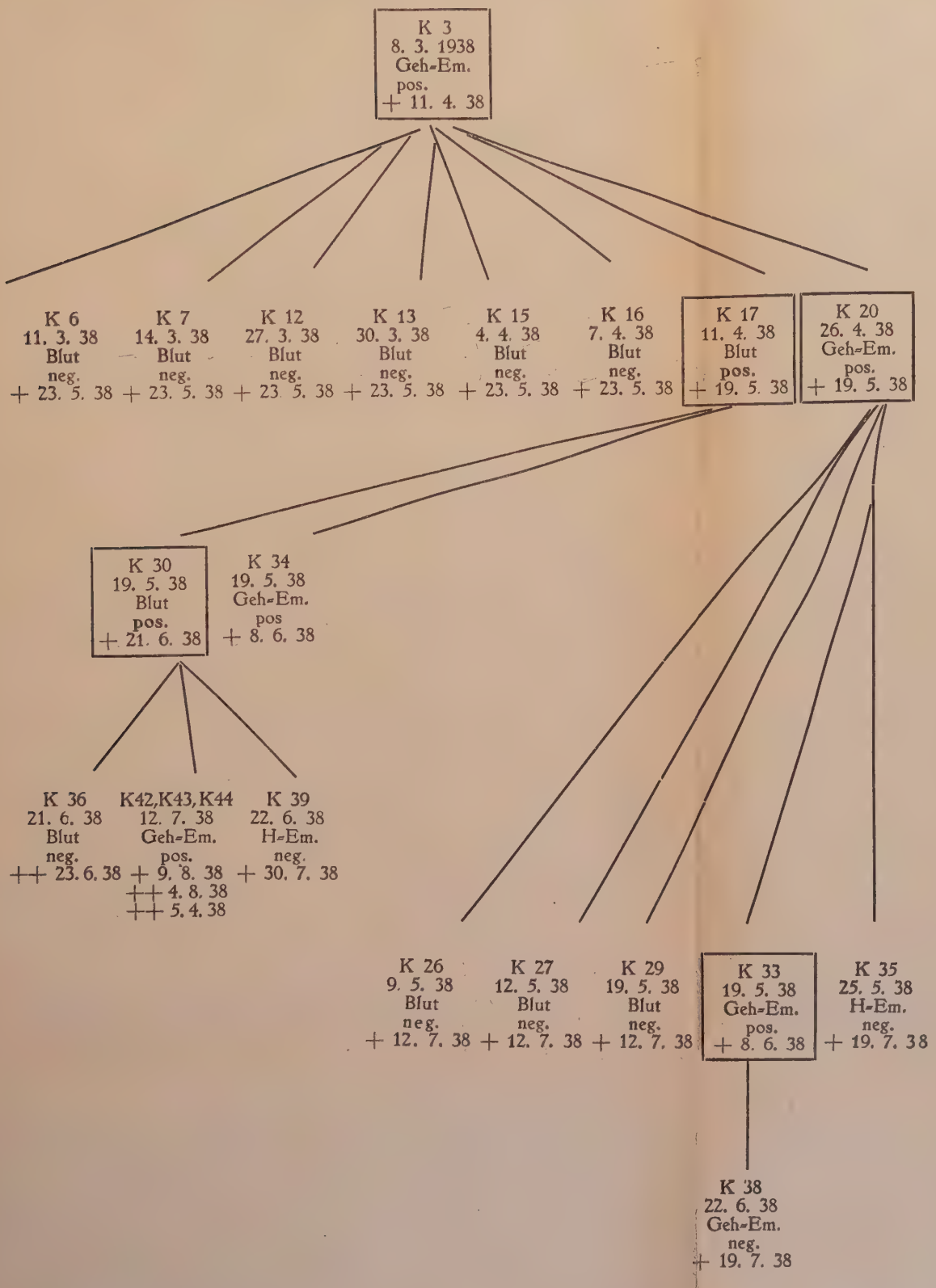
Erklärung:

1. Zeitangabe = Impftag; 2. Zeitangabe = Todestag;
+ = Tötung und ++ = natürlicher Tod;
Geh-Em. = mit Gehirnemulsion intracerebral geimpft;
Blut = mit Blut intracerebral geimpft;
H-Em. = mit Hautemulsion intracerebral geimpft.

Stammbaum von Kaninchen 2.



Stammbaum von Kaninchen 3.



Tabelle

(umfassend die Tiere der Vorversuche).

Nr.	Impftag	Impfart	Material u. Menge	Krankh.entw.	Todestag	Ausfall
1	8. 3. 38	intracb.	Geh. Em. zu 0,3	2. 4. 38	11. 4. 38.	+
2	8. 3. 38.	„	„ „ zu 0,3	3. 4. 38	11. 4. 38.	+
3	8. 3. 38.	„	„ „ zu 0,3	31. 3. 38.	11. 4. 38.	+
4	8. 3. 38.	intract.	„ „ 50 Stiche	—	23. 5. 38.	—
5	8. 3. 38.	„	„ „ „ „	—	23. 5. 38.	—
6	11. 3. 38.	intracb.	Blut—K3 zu 0,4	—	23. 5. 38.	—
7	14. 3. 38.	„	Blut—K3 zu 0,4	—	23. 5. 38.	—
8	17. 3. 38.	„	Blut—K2 zu 0,3	—	23. 5. 38.	—
9	21. 3. 38.	„	Blut—K2 zu 0,3	—	23. 5. 38.	—
10	23. 3. 38.	„	Blut—K1 zu 0,3	—interc.	24. 3. 38.	—
11	24. 3. 38.	„	Blut—K1 zu 0,2	—	23. 5. 38.	—
12	27. 3. 38.	„	Blut—K3 zu 0,2	—	23. 5. 38.	—
13	30. 3. 38.	„	Blut—K3 zu 0,2	—	23. 5. 38.	—
14	1. 4. 38.	„	Blut—K2 zu 0,2	—	23. 5. 38.	—
15	4. 4. 38.	„	Blut—K3 zu 0,2	—	23. 5. 38.	—
16	7. 4. 38.	„	Blut—K3 zu 0,2	—	23. 5. 38.	—
17	11. 4. 38.	„	Blut—K3 zu 0,5	8. 5. 38.	19. 5. 38.	+
18	11. 4. 38.	„	Blut—K2 zu 0,5	—	23. 5. 38.	—
19	11. 4. 38.	„	Blut—K1 zu 0,5	—	23. 5. 38.	—
20	26. 4. 38.	„	Geh.—K3 zu 0,3	15. 5. 38.	19. 5. 38.	+
21	26. 4. 38.	„	Geh.—K2 zu 0,3	13. 5. 38.	16. 5. 38.	+
22	26. 4. 38.	„	Geh.—K1 zu 0,3	15. 5. 38.	18. 5. 38.	+
23	29. 4. 38.	„	Blut—K22 zu 0,4	—	12. 7. 38.	—
24	2. 5. 38.	„	Blut—K22 zu 0,3	—	12. 7. 38.	—
25	5. 5. 38.	„	Blut—K21 zu 0,2	—	12. 7. 38.	—
26	9. 5. 38.	„	Blut—K20 zu 0,3	—	12. 7. 38.	—
27	12. 5. 38.	„	Blut—K20 zu 0,3	—	12. 7. 38.	—
28	16. 5. 38.	„	Blut—K21 zu 0,3	—	12. 7. 38.	—
29	19. 5. 38.	„	Blut—K20 zu 0,2	—	12. 7. 38.	—
30	19. 5. 38.	„	Blut—K17 zu 0,3	12. 6. 38.	21. 6. 38.	+
31	19. 5. 38.	„	Geh.—K21 zu 0,3	1. 6. 38.	4. 6. 38.	+
32	25. 5. 38.	„	Geh.—K22 zu 0,3	—interc.	29. 5. 38.	—
33	19. 5. 38.	„	Geh.—K20 zu 0,2	4. 6. 38.	8. 6. 38.	+
34	19. 5. 38.	„	Geh.—K17 zu 0,2	6. 6. 38.	8. 6. 38.	+
35	25. 5. 38.	„	Haut—K20 zu 0,5	—	19. 7. 38.	—
36	21. 6. 38.	„	Blut—K30 zu 0,3	—interc.	23. 6. 38.	—
37	23. 6. 38.	„	Geh.—K31 zu 0,2	5. 7. 38.	14. 7. 38.	+
38	22. 6. 38.	„	Geh.—K33 zu 0,2	—	19. 7. 38.	—
39	22. 6. 38.	„	Haut—K30 zu 0,4	—	30. 7. 38.	—
40	22. 6. 38.	intract.	Geh.—K31 50 Stiche	—	30. 7. 38.	—
41	22. 6. 38.	„	Geh.—K31 50 Stiche	—	30. 7. 38.	—
42	12. 7. 38.	intracb.	Geh.—K30 zu 0,3	25. 7. 38.	9. 8. 38.	+
43	12. 7. 38.	„	Geh.—K30 zu 0,3	29. 7. 38.	4. 8. 38.	+
44	12. 7. 38.	„	Geh.—K30 zu 0,3	30. 7. 38.	5. 8. 38.	+
52	24. 2. 39.	„	Geh.Em. zu 0,3	28. 3. 39.	15. 4. 39.	+

Zeichenerklärung: intracb. = intracerebral / Geh.Em. = Gehirnemulsion / intract. = intracutan / Blut—K1 = Blut von K 1 / Geh.—K1 = Gehirnemulsion von K 1 / Haut—K20 = Hautemulsion von K 20 / interc. = intercurrent. / K1, K2 und K3 wurden mit Geh.Em. Gießen A 5884/St. V, K 52 wurde mit Geh.Em. Gießen K.O.A 7756/St. 15 geimpft.

Tabelle

(umfassend die Tiere der Übertragungsversuche).

Rechter Käfig			Linker Käfig	
Beginn des Versuches	Zahl und Art d. Insekten Futtermittel	Öffnen des Schiebers	Nummer der gesunden Tiere	Ende des Versuches
20. 7. 38	60 Stomoxys 5 Tab. equi Traubenzuckergehirnemulsion von K 37	21. 7. 38	45 + 15. 11. 38	26. 7. 38
26. 7. 38	90 Stomoxys 4 Tab. equi Traubenzuckergehirnemulsion von K 37	27. 7. 38	46 und 47 + 15. 11. 38	1. 8. 38
1. 8. 38	70 Stomoxys 15 Tab. equi 5 Tab. bov. K 42	2. 8. 38	48 und 49 + 15. 11. 38	9. 8. 38
7. 2. 39	50 Stomoxys Traubenzuckergehirnemulsion Gießen K.O.A 7756/St. 15	8. 2. 39	50 und 51 + 17. 5. 39	15. 2. 39
5. 4. 39	50 Stomoxys K 52	6. 4. 39	53 und 54 + 10. 6. 39	12. 4. 39

Von den Versuchstieren K 45 mit K 51 und K 53 mit K 54 ist keines an der Bornaschen Krankheit erkrankt.

Literaturverzeichnis.

1) Meyer, K. F., Haring, C. M., and Howitt, B. F. Science **74,** 227 (1931).
2) Dieselben, J. amer. vet. med. Assoc., **79,** 376 (1931).
3) Kelser, R. A., J. amer. vet. med. Assoc., **82,** 767 (1933).
4) Records, E., and Vawter, L. R. J. amer. vet. med. Assoc., **90,** 373 (1937).
5) Derselbe, Univ. of Nevada Agr. Sta. Bull. **132** (1933).
6) Madson, D. E., and Knowlton, G. F. J. amer. vet. med. Assoc., **86,** 662 (1935).
7) Derselbe, and Rowe, J. A. J. amer. vet. med. Assoc., **89,** 187 (1936).
8) Merril, M. H., Lacaillade, C. W., and TenBroeck, C. Science **80,** 151 (1934).
9) Derselbe, and TenBroeck, C. Proc. Soc. exper. Biol. a. med. **32,** 421 (1934).
10) Dieselben, J. of exper. Med. **62,** 687 (1935).
11) Simmons, Reynolds, Fr. H. K., and Cornell, V. H. Amer. J. trop. med. **16,** 289 (1936).
12) Whitman, L., J. exp. med. **66,** 133 (1937).
13) Kelser, R. A., J. amer. vet. med. Assoc. **92,** 195 (1938).
14) Nicolau, S. S. et Stroian, N., Ann. Inst. Pasteur **44,** 673 (1930).
15) Dieselben, Ann. Inst. Pasteur **45,** 457 (1930).
16) Dieselben, C. r. Soc. Biol. **103,** 852 (1930).
17) Dieselben u. Kopciowska, L., C. r. Soc. Biol. **107,** 30 (1931).
18) Galloway et Nicolau, S. S., C. r. Soc. Biol. **100,** 537 (1929).
19) Seifried, O., Z. Inf.Krkh. Haustiere **36,** 18 (1938).
20) Pette, H. und Környey, St., Dtsch. Z. Nervenheilk. **136,** 20 (1935).
21) Schwarzmaier, E., Arch. Tierheilk. **72,** 167 (1937).
22) Seifried, O. und Spatz, Dtsch. Z. Nervenheilk. **111,** 38 (1939).
23) Dieselben, Z. Neur. **124,** 317 (1930).
24) Seifried, O., Erg.Path. **24,** 554 (1931).
25) Derselbe, Erg.Path. **31,** 201 (1936).
26) Zwick, W., Seifried, O. und Witte, Arch. Tierheilk. **59,** 511 (1929).
27) Dieselben, Z. Inf.Krkh. Haustiere **32,** 150 (1927).
28) Ernst, W., Arch. Tierheilk. **63,** 38 (1931).

29) Zwick, W., Seifried, O. und Witte, Arch. Tierheilk. **64**, 105 (1931).
30) Zwick, W. und Witte, Arch. Tierheilk. **64**, 116 (1931).
31) Zwick, W., Witte und Bert, Berl. tierärztl. Wschr. **48**, 336 (1932).
32) Zwick, W., Münch. tierärztl. Wschr. **84**, 504 (1933).
33) Zwick, W., Witte und Schwarzmaier, E., Z. Inf.Krkh. Haustiere **52**, 1 (1937).
34) Waldmann, O. u. Hirschfelder, Berl. tierärztl. Wschr. **16**, 229 (1938).
35) Gildemeister, E., Haagen, E. und Waldmann, O., Handb. Viruskrkh. **1**, 10 (1939).
36) Dieselben, Handb. der Viruskrankh. **2**, 254—334 (1939).

Lebenslauf.

Ich, German Karl Zierer, wurde am 9. Februar 1915 in Ludwigshafen/Rhein als Sohn des Schlachthofdirektors und Stabsveterinärs d. R. Rupert Zierer und dessen Ehefrau Gabriele, geb. Naager, geboren.

Nach Besuch der Volksschule und des hum. Gymnasiums in Landshut legte ich dort im Frühjahr 1934 die Reifeprüfung ab.

Das tierärztliche Studium begann ich am 1. November 1934 in München und widmete mich ab WS. 1937/38 bis Frühjahr 1939 der Abfassung vorliegender Arbeit.

Am 14. 6. 1939 beendete ich die tierärztliche Prüfung vor dem Prüfungsausschuß der tierärztlichen Fakultät der Universität München und bin zur Zeit bis 2. 8. 1939 als Veterinärpraktikant am Schlachthof in Landshut tätig.